



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

INCORPORACIÓ DE L' EXTRACTE DE PÈTALS DE FLORS COMESTIBLES I LLAVOR DE BAOBAB PER AUGMENTAR LA VIDA ÚTIL EN HAMBURGUESES

Treball final de grau

Enginyeria Alimentària

Autor: Laia Rodriguez Gonzalez

Tutor: Isabel Achaerandio

10 / juliol / 2019

Resum

En l'actualitat ha augmentat l'interès del consum de les flors degut als beneficis que aporten sobre la salut. Un d'aquests beneficis és, en molts casos, el poder antioxidant. Si afegim aquests extractes a la carn picada ajudarà a augmentar la seva vida útil.

En aquest Treball Final de Grau s'ha fet una recerca bibliogràfica dels possibles extractes vegetals que tindrien un millor resultat en de la carn picada de vedella i així poder substituir els additius utilitzats avui en dia en la indústria alimentària. L'estudi experimental es divideix en dos fases. La fase 1: "Selecció dels extractes de flors i la seva dosi per l'addició a hamburgueses": a partir d'unes proves on es va variant el percentatge de cada extracte (Baobab, Hibiscus i Lavanda), obtenim la concentració més adequada per una acceptabilitat; en aquesta primera fase degut als resultats vam descartar la flor de Lavanda per la seva aromatització. Un cop feta aquesta primera fase, passem a la fase 2: "Estudi de vida útil d'hamburgueses amb extractes": d'aquesta vam obtenir uns resultats a partir de diferents controls, pH, color, anàlisi sensorial i anàlisi microbiològic, a més a més vam fer una comparativa amb l'additiu E-223, que és un dels que està permès utilitzar en carn picada.

Els resultats obtinguts finalment van ser força interessants amb l'extracte de l'Hibiscus. Fent l'anàlisi microbiològic vam concloure que al 10è dia el resultat és de 6 log ufc i el límit establert per la legislació és de 6,7. Això indica que té una vida útil de 10 dies. Hi ha dos variacions significatives respecte el control, que són: el color i el pH ja que ens donen valors diferents als estàndards per la carn picada, sense oferir problemes de qualitat. En el cas del Baobab no ens dona cap tipus de coloració, el pH també té un pH inferior al òptim, però aquí el límit de microorganismes aerobis permesos en la carn picada es sobrepassa a partir del 6è dia, això vol dir que ens aporta una vida útil inferior a l'extracte d'Hibiscus, però superior a la del control.

Paraules clau: Extractes vegetals, Hibiscus, Baobab, poder antioxidant, carn picada.

Resumen

Ha aumentado el interés del consumo de las flores debido a los beneficios que aportan sobre la salud. Uno de estos beneficios es, en muchos casos, el poder antioxidante pues si añadimos estos extractos a la carne picada ayudará a aumentar su vida útil.

En este Trabajo Final de Grado se ha hecho una búsqueda bibliográfica de los posibles extractos vegetales que tendrían un mejor resultado en de la carne picada de ternera y así poder sustituir los aditivos utilizados hoy en día en la industria. El estudio experimental se divide en dos fases. La fase 1: "Selección de los extractos de flores y su dosis para la adición en hamburguesas": a partir de unas pruebas donde se va variando el porcentaje de cada extracto (Baobab, Hibiscus y Lavanda), obtenemos la concentración más adecuada para una aceptabilidad; en esta primera fase debido a los resultados descartamos la flor de Lavanda por su aromatización. Una vez hecha esta primera fase, pasamos a la fase 2: "Estudio de vida útil de hamburguesas con extractos": de esta obtuvimos unos resultados a partir de diferentes controles, pH, color, análisis sensorial y análisis microbiológico, además hacemos una comparativa con el aditivo E-223, que es uno de los que está permitido utilizar en carne picada.

Los resultados obtenidos finalmente fueron bastante interesantes por parte del extracto del Hibiscus. Haciendo el análisis microbiológico se obtiene que al 10º día el resultado es de 6 log ufc y el límite establecido por la legislación es de 6,7, lo que indica que tiene una vida útil de 10 días. Hay dos variaciones significativas respecto al control, que son: el color y el pH ya que nos dan valores diferentes a los estándares para la carne picada, sin ofrecer problemas de calidad. En el caso del Baobab no nos da ningún tipo de coloración, el pH también tiene un pH inferior al óptimo, pero aquí el límite de microorganismos aerobios permitido en la carne picada se sobrepasa a partir del 6º día, esto quiere decir que nos aporta una vida útil inferior al extracto de Hibiscus, pero superior a la del control.

Palabras clave: Extractos vegetales, Hibiscus, Baobab, poder antioxidante, carne picada.



Abstract

The interest of the consumption of the flowers has increased due to the benefits that they contribute on the health. One of these benefits is, in many cases, the antioxidant power because if we add these extracts to the minced meat it will help to increase its useful life.

In this Final Degree Project, a bibliographic search has been made of the possible vegetable extracts that would have a better result in the minced meat of beef and this be able to replace the additives used in the industry today. The experimental study is divided into two phases. Phase 1: "Selection of flower extracts and their dose for addition to hamburgers": from some tests where the percentage of each extract is varied (Baobab, Hibiscus and Lavender), we obtain the most suitable concentration for an acceptability; In this first phase due to the results we discard the Lavanda flower for its aromatization. Once this first phase is done, we move on Phase 2: "Study of shelf life of hamburgers with extracts": from this we obtained some results from different controls, pH, color, sensory analysis and microbiological analysis, in addition we also make a comparison with the additive E-223, which is one that is allowed to use in minced meat.

The results finally obtained were quite interesting on the part of the Hibiscus extract. Doing the microbiological analysis it is obtained that on the 10th day the result is 6 log ufc and the limit established by the legislation is of 6.7, which indicates that it has a useful life of 10 days. There are two significant variations with respect to the control, which are: the color and the pH since they give us different values to the standards for minced meat, without offering quality problems. In the case of the Baobab does not give us any type of coloring, the pH also has a pH below the optimum, but here the limit of aerobic microorganisms allowed in minced meat is exceeded from the 6th day, this means that it gives us a shelf life lower than Hibiscus extract, but higher than control.

Keywords: Vegetable Extracts, Hibiscus, Baobab, Antioxidant Power, minced meat.

Sumari

ÍNDEX DE FIGURES	6
ÍNDEX DE TAULES	7
1. INTRODUCCIÓ	8
1.1. Compostos fenòlics	8
1.1.1. Activitat biològica dels polifenols	8
1.1.2. Classificació polifenols.....	9
1.1.3. Activitat antioxidant dels polifenols dels aliments	10
1.2. Les flors com aliment	11
1.2.1. Color en les flors.....	11
1.2.2. Influència del color en el poder antioxidant.....	12
1.3. Extractes vegetals com a antioxidants naturals.....	13
1.3.1. Aplicació	13
1.3.2. Extractes vegetals en la carn.....	14
1.3.3. <i>Hibiscus sabdariffa</i>	19
1.3.4. Lavanda (<i>Lavandula angustifolia</i>)	20
1.3.5. Baobab (<i>baobab africà L.</i>)	20
1.4. Qualitat de la carn	20
1.4.1. Microbiologia de la carn.....	21
1.4.2. Límits microbiològics en la carn	22
2. OBJECTIUS	23
3. MATERIALS I MÈTODES	24
3.1. Matèries primeres.....	24
3.2. Fase 1: Selecció dels extractes de flors i la seva dosi per l'addició a hamburgueses	24
3.2.1. Matèries primeres càrnies, ingredients i additius	25
3.2.2. Diagrama de flux	26
3.2.3. Procediments	27
3.3. Fase 2: Estudi de vida útil d'hamburgueses amb extractes de flors	27
3.3.1. Matèries primeres càrnies, ingredients i additius	28
3.3.2. Diagrama de flux	29
3.3.3. Procediments	30

3.4.	Realització de controls	30
3.4.1.	pH	30
3.4.2.	Color	30
3.4.3.	Sensorial	31
3.4.4.	Microbiològic.....	31
3.5.	Caracterització.....	32
3.5.1.	Extracció dels fenols.....	32
3.5.2.	Determinació dels fenols totals (Folin-Ciocalteu).....	33
4.	RESULTATS	34
4.1.	Fase 1.....	34
4.1.1.	Polifenols totals.....	35
4.2.	Fase 2.....	36
4.2.1.	pH	36
4.2.2.	Color	37
	38	
4.2.3.	Sensorial	39
4.2.4.	Anàlisi microbiològic	40
5.	DISCUSSIÓ	41
	CONCLUSIONS	42
	BIBLIOGRAFIA	43

Índex de figures

Figura 1.1: Classificació polifenols	9
Figura 3.1: Diagrama de flux fase 1	26
Figura 3.2: Diagrama de flux fase 2	29
Figura 4.1: Evolució del pH al llarg de l'experiment	36
Figura 4.2: Hamburgueses dia 01 (esquerra) i dia 10 (dreta)	38
Figura 4.3: Gràfica sistema CIELAB (L^* a^* b^*)	38
Figura 4.4: Gràfica de caixa la mitjana log UFC a través dels dies	40

Índex de taules

Taula 1-1 Estudis realitzats amb extractes vegetals com a conservant	15
Taula 1-2 Possibles microorganismes en la carn	21
Taula 1-3 Controls de la carn	22
Taula 1-4 Límits (Diario Oficial de la Unión Europea.)	22
Taula 3-1 Formulacions de les hamburgueses 2,5% 5% i 10%	25
Taula 3-2 Formulacions 0,5% 1% i 2%	25
Taula 3-3 Realització de controls (Unitat de temps expressat en dies)	28
Taula 3-4 Formulació experiment	28
Taula 4-1 Resultats anàlisi sensorial fase 1	34
Taula 4-2 Evolució dels paràmetres de pH en les hamburgueses.	36
Taula 4-3 Evolució dels paràmetres de color en les hamburgueses	37
Taula 4-4 Resultats anàlisi sensorial fase 2	39

1. Introducció

1.1. Compostos fenòlics

Els compostos fenòlics tenen el seu origen en el món vegetal, són uns dels principals metabòlits secundaris de les plantes. A més, actuen com fitoalexines. Les plantes ferides secreten fenols per defensar-se de possibles atacs i contribueixen a la pigmentació de la planta.

Els fenols es troben gairebé en tots els aliments d'origen vegetal. Aquestes substàncies influeixen en la qualitat, acceptabilitat i estabilitat dels aliments, ja que actuant com a colorants, antioxidants i també proporcionen sabor.

Els fenols s'oxiden amb molta facilitat, experimentant l'oxidació molt abans que altres substàncies també molt oxidables. Això els ofereix una qualitat especialment antioxidant amb l'objectiu de contrarestar l'oxidació produïda per radicals lliures, productes químics, la llum, etc. Per això, el contingut de compostos fenòlics en plantes es primordial per la seva autoprotecció.

1.1.1. Activitat biològica dels polifenols

Els polifenols posseeixen accions antiinflamatòries, antidiarrièiques, antiúlcerals, antivirals, antial·lèrgiques i vasodilatadores. S'ha verificat que inhibeixen la replicació del virus de la immunodeficiència humana (HIV) i del virus símplex humà (HSV), inhibeixen les glucosiltransferases del *Streptococcus mutans* (càries dental), inhibeixen l'autooxidació del ascorbat, també inhibeixen efectes citotòxics, la promoció del creixement tumoral i l'enzim xantina mono amina oxidasa. L'activitat antioxidant dels fenols és l'origen de funcions biològiques com ara la antimutagènica, anticancerígena i antienvelliment. (Velioglu et al, 1998; Proestos et al, 2005).



1.1.2. Classificació polifenols

Els polifenols es poden classificar, com veiem a la Figura 1.1, en no flavonoides i flavonoides, i aquests en varis subgrups.

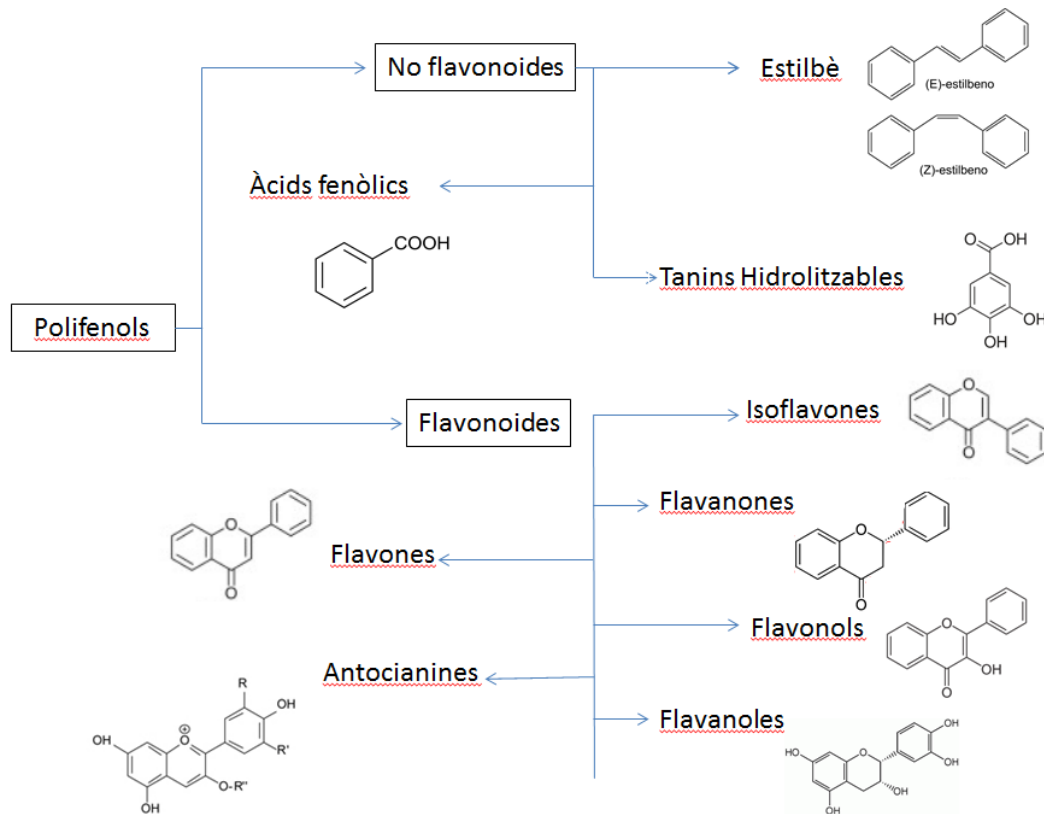


Figura 1.1: Classificació polifenols

Els flavonoides són pigments vegetals de baix pes molecular que tenen una estructura comuna formada per un esquelet carbonat de tres unitats (C6-C3-C6), compost de tres anells aromàtics, dos dels quals són fenòlics i l'altre anell és un pirà heterocíclic.

Participen activament en la vida de la planta i del seu metabolisme. A més, tenen un paper de protecció d'insectes i dels rajos UV a part de tenir un funció molt important com antioxidant.

Gran part de les fruites i vegetals deuen el seu color als corresponents pigments, que són substàncies amb una funció biològica molt important al seu teixit. Existeixen una gran quantitat de pigments relacionats amb les fruites i vegetals, entre ells les clorofil·les, els carotenoides, les antocianines, els flavonoides, els tanins, les betalaines i altres.

1.1.3. Activitat antioxidant dels polifenols dels aliments

Els flavonoides són la classe predominant dels fenols presents en els aliments perquè representen aproximadament els 2/3 dels fenols consumits en la dieta humana. Els tanins també són una font important d'antioxidants. A causa de la presència en els aliments d'origen vegetal, els humans consumeixen compostos fenòlics diàriament. El rang de consum és de 25 mg a 1g per dia depenent del tipus de dieta (fruites, vegetals, grans, te, espècies) (Robbins, 2003; Hagerman et al, 1998).

Les fruites en general, i en particular, les fruites petites, contenen una àmplia gamma de flavonoides i àcids fenòlics que mostren activitat antioxidant.

El te s'ha fet servir com a beguda de consum diari i com a medicina per centenars d'anys a la Xina. Posseeix efectes antipirètics i diürètics, activitat antioxidant, anti-mutagènica i anticancerós, així com també capacitat per capturar els radicals lliures i l'oxigen actiu. D'altra banda, en estudis epidemiològics s'ha comprovat una disminució de la incidència de càncer associada a alts consums de te. El poder antioxidant del te es correlaciona fortament amb el contingut de polifenols totals. (Zhou *et al.*, 2019)

S'han fet estudis sobre el poder antioxidant, i la seva composició polifenòlica, en herbes aromàtiques com la Sàlvia, la farigola, *Ginkgo biloba*, menta, artemísia, Aloe, valeriana, cibulet, anet, espígol, fonoll, orenga, marduix, melissa, julivert, romaní, alfàbrega, llorer, saüc, coriandre, julivert, safrà, dent de lleó, camamilla, tell i vinca. Cada herba té una composició fenòlica diferent, i el poder antioxidant de cada un d'aquestes espècies vegetals també ho és. Existeix una correlació lineal positiva entre el contingut fenòlic i la capacitat antioxidant de les herbes. En conseqüència, les herbes són una bona font potencial d'antioxidants naturals. Romaní i farigola presenten major concentració polifenòlica i major poder antioxidant (Proestos *et al.*, 2005).

Els extractes crus de fruites, herbes, verdures i altres materials vegetals rics en fenols estan generant interès en la indústria dels aliments degut a que retarden la degradació oxidativa dels lípids, i per tant milloren la qualitat i el valor nutricional dels aliments (Käkhönen *et al.*, 1999).

Els pigments carotenoides són compostos responsables de la coloració de gran nombre d'aliments vegetals i animals, com les pastanagues, suc de taronja, tomàquets, salmó i clara d'ou. No obstant, estudis han posat de manifest les propietats antioxidants d'aquests pigments. (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004).

Gran part de les fruites i vegetals deuen el seu color als seus corresponents pigments, que són substàncies amb una funció biològica molt important al seu teixit. Existeixen una gran quantitat de pigments relacionats amb les fruites i vegetals, entre ells les clorofil·les, els carotenoides, les antocianines, els flavonoides, els tanins, les betalaines i altres.

1.2. Les flors com aliment

Les flors es poden utilitzar en amanides, en guarnicions de sopes i entrants, com a ingredient de molts plats, esmicolades sobre postres, en glaçons i en begudes. Aquestes aporten un ampli ventall de colors, gustos i formes interessants. A més a més moltes de les flors comestibles tenen components saludables. S'ha de tenir en compte que les flors d'algunes plantes posseeixen un actiu antioxidant molt fort, especialment quan se'n fan infusions.

Molts estudis demostren el gran poder antioxidant de les flors gràcies a la quantitat de polifenols que contenen. Els polifenols tenen diverses propietats i contribueixen a les propietats funcionals dels pètals comestibles. Una d'aquestes propietats funcionals és l'activitat antioxidant que està relacionada amb el contingut de polifenols. (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004).

1.2.1. Color en les flors

Les flors deuen el seu color a dos tipus de pigments: pigments liposolubles, continguts als cloroplasts, i pigments hidrosolubles continguts als vacúols de les cèl·lules epidèrmiques dels pètals. Gairebé tots els tons blaus i púrpures es deuen a pigments vacuolars anomenats antocians. Aquests canvien de color en funció del grau d'acidesa, o alcalinitat, i del tipus exacte d'antocianina. Si la solució vacuolar és bàsica, el color és blau; si és neutra, vira cap al púrpura o al

violeta; i si és àcida, es converteix en vermell. Aquestes variacions expliquen perquè una mateixa planta varia de color segons on estigui plantada. Els vermells poden ser deguts també a la presència de pigments cromoplàstics. Els grocs els donen gairebé sempre les flavones o carotens. El color blanc dels pètals es deu a la presència de diminutes bosses d'aire entre les cèl·lules que els formen. (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004).

1.2.2. Influència del color en el poder antioxidant

Els pètals amb més quantitat de polifenols seran les que tenen més poder antioxidant, per tant, els que tenen un color més pàl·lid tindran menys capacitat antioxidant ja que aquestes games de color es deuen a la presència de diminutes bosses d'aire entre les cèl·lules que els formen. D'altra banda els pètals amb més concentració de polifenols són aquells pètals amb tons liles

Així doncs, a l'hora de triar un pètal per a dur a terme aquesta hipòtesi, faré servir un pètal de color lila, perquè són els que tenen una major concentració d'antocians.

Algunes de les flors comestibles de tons liles que ja tenen un ús dintre de la dieta són:

- **Violeta** (*Viola odorata*): Les seves flors són petites d'un color blau intens, lila o blanc. Desprenen una aroma molt suau i delicat, el seu ús està especialment estès a Espanya i França. Aquestes flors es poden introduir a la alimentació de diferents maneres, fresques, seques, cristal·litzades i, inclús, confitades. Utilitzades amb verdures i fruites.
- **Gerani** (*Geranium pelargonium spp*): Colors variats, les flors tenen sabors afruitats i cítrics. S'utilitzen per a rebosteria, begudes, amanides o simplement com a guarnició.
- **Hibiscus** (*Hibiscus sabdariffa*): De sabor dolç i colors variats, s'utilitza en plats d'aus i peixos, amanides i confitades en la rebosteria. Es poden menjar tant crues com cuinades. Moltes espècies diferents són utilitzades en alimentació.
- **Lavanda** (*Lavandula angustifolia*): De sabor lleugerament picant. Va molt bé en plats de carn de caça, pollastre, en cremes i amanides. També s'ha utilitzat en rebosteria per a gelats i dolços.
- **Lila** (*Syringa vulgaris*): De color lila, com el seu nom indica, el sabor que aporten els pètals d'aquesta flor és un sabor àcid. Es utilitza en plats d'aus i amanides de fruita.

- **Malva** (*Althea rosea*): Aquesta flor es pot trobar des de el color blanc fins al lila, passant per diferents tons. Té un sabor suau, per això, de moment, només es coneix la utilització per a amanides.
- **Ceba de fulla** (*Allium schoenoprasum*): Es d'un color violeta, semblant al color de la flor de lavanda. El seu sabor similar a la ceba, fa que aquesta flor sigui utilitzada tant per amanides com per plats de carn i peix. Aquesta flor comestible també s'utilitza per a crear olis i vinagre.

1.3. Extractes vegetals com a antioxidants naturals

Els antioxidants s'utilitzen per minimitzar els canvis oxidatius. Els canvis oxidatius poden tenir efectes negatius sobre la qualitat de l'aliment causant variacions en les seves propietats sensorials i nutricionals. Tot i que ja s'han utilitzat antioxidants inorgànics, en els darrers anys la demanda d'antioxidants provinents d'extractes s'ha incrementat principalment degut a l'interès en reduir la quantitat d'additius (diòxid de sofre, nitrats i nitrits, etc.) a causa dels efectes adversos dels antioxidants sintètics (Jiang & Xiong, 2016). La major part de les recents investigacions s'han dirigit a la identificació d'antioxidants naturals de diverses fonts vegetals. Els extractes de plantes s'han preparat utilitzant diferents dissolvents i mètodes d'extracció. Les llavors de raïm, el te verd, l'escorça de pi, el romaní, la magrana, etc. han mostrat propietats antioxidants similars, o millors, en comparació amb alguns sintètics (Falowo, Fayemi, & Muchenje, 2014).

1.3.1. Aplicació

Hi ha molts estudis realitzats on l'objectiu ha estat poder demostrar, o trobar, un nou additiu procedent de fonts vegetals que faci la funció antioxidant i antimicrobiana que ens donen els additius inorgànics en diferents aliments com ara a productes carnis o al peix.

La següent taula (Taula 1-1) és un recopilatori de diferents experiments que es van portar a terme per veure aquest poder antioxidant. Gràcies a aquesta recopilació podrem tenir uns paràmetres més acotats de les quantitats raonables que hem d'utilitzar a l'hora de fer l'experiment. No només això, podrem tenir també una idea més clara per acabar de triar el pètal, juntament amb la informació adquirida prèviament de les quantitats de polifenols que té cada espècie de flor.

1.3.2. Extractes vegetals en la carn

L'aplicació d'extractes vegetals com a antioxidants s'ha estudiat àmpliament en diferents tipus de carn i productes carnis (Taula 1-1), juntament amb altres aliments com el peix. Aquests estudis mostren resultats prometedors en quant a l'ús d'extractes de plantes com antioxidants a la carn. Aquests extractes inhibeixen l'oxidació lipídica i la degradació dels pigments de carn i, per tant, ajuden a retardar l'aparició de sabors rancs i estableixen el color de la carn. L'aplicació d'aquests extractes va millorar la qualitat sensorial i nutritiva general de la carn i dels productes carnis i, per tant, la seva vida útil.

Tot i que aquests extractes deriven de plantes generalment considerades segures, es necessiten més investigacions per determinar els seus límits segurs i els efectes toxicològics en carn i productes carnis, ja que les condicions d'extracció o de processament poden alterar les seves propietats. (Shah, Bosco, & Mir, 2014).

Taula 1-1 Estudis realitzats amb extractes vegetals com a conservant

Extracte	Dosis	Aliment	Resultats obtinguts	Font
Preparats d'orenga (orenga sec, extracte d'orenga i oli essencial d'orenga)	2% i 0,1% (oli) (p/p)	Carn de pollastre al buit congelada	Tots allarguen l'estabilitat, tot i que, el que presenta major inhibició del canvis oxidatius dels lípids i limitar el creixement de la microflora es per l'oli essencial	(Hać-Szymańczuk, Cegiełka, Karkos, Gniewosz, & Piwowarek, 2018)
Llavors de raïm	0,1% (p/p)	Xai	Reducció de l'oxidació lipídica en comparació amb el control. Millora de la vida útil.	(Reddy et al., 2013)
Pell de magrana	1%	Carn de cabra picada i nuggets	Reducció de l'oxidació lipídica tant en la carn picada com en els nuggets	(Devatkal, Thorat, & Manjunatha, 2014)
Romaní i Clau	0,1 % (v/p)	Pollastre Cru	Recompte bacterià més baix que el control. Els valors de la peroxidació lipídica més baixos.	(Zhang, Wu, & Guo, 2016)
Grosella negra	0,5 % 1% i 2% (p/p)	Empanades de porc crues	Inhibició de l'oxidació de lípids i proteïnes . Mostren un engrogiment respecte al control depenent de la quantitat.	(Jia, Kong, Liu, Diao, & Xia, 2012)
Oli essencial d'orenga, romaní o all	0.05% i 0,4% (p/p)	Empanades de porc en fred	En el cas del oli de romaní i orenga aquesta pèrdua de proteïnes tioles. L'oli d'all promou l'oxidació de la proteïna.	(Nieto, Jongberg, Andersen, & Skibsted, 2013)
Llavors de raïm		Productes a base de carn i cereals	Augment de la recuperació total de polifenols després de la digestió dels extractes de llavors de raïm en comparació amb els digerits sense. Baixa recuperació de proantocianidines i flavoides totals	(Pešić et al., 2019)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	2,5% 5% 10% (p/p)	Aïllats de E. Coli d'aliments	Més concentració de Hibiscus més potent. Mitjana d'inhibició 15,37-061 mm d'una font	(Fullerton, Williams, Khatiwada, Johnson, & Davis, 2011)

<i>Hibiscus sabdariffa</i>	5% (p/p)	Sardines	Altament efectiu com a conservant de peix	(Villasante, Girbal, Metón, & Almajano, 2019)
<i>Carya illinoensis</i>	5% i 10 % (p/p)	Sardines	Percentatge més gran d'àcids grassos monoinsaturats sans.	(Villasante et al., 2019)
<i>Carya illinoensis</i> i <i>Hibiscus sabdariffa</i>	5% (p/p) de cada una	Sardines	Altament efectiu com a conservant de peix	Villasante, Girbal, Metón, & Almajano, 2019)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	10 ml/100 g	Carn picada	Inhibeix la supervivència i el creixement dels aerobis i les espècies de <i>Campylobacter</i> susceptibles i resistent als antibiòtics. Disminueix els nivells d'oxidació del lípids, no afecta al pH, als atributs sensorials i humitat durant 15 dies	(Yin & Chao, 2008)
Chamamany (<i>Pimpinella brachycarpa</i>) i fàtsia (<i>Aralia elata</i>)	0,1% i 0,5 % (p/p)	Empanades de vedella crues	Disminució dependents de la concentració en el nombre de microorganismes a les empanades, millor estabilitat del color. L'extracte de fàtsia activitats antioxidants i antimicrobianes més eficaces.	(Kim, Cho, & Han, 2013)
Fulles de la castanya	0,1% (p/p)	xoriço	Recomptes de fongs i llevats més baixos. No varia el pH. No hi ha presència d' hexanal. Major contingut d'aigua i millor textura acceptable	(Lorenzo, González-Rodríguez, Sánchez, Amado, & Franco, 2013)
Fulles de la castanya	0,2% (p/p)	llonganissa	Reducció del pH. Disminució de l'hexanal. No hi ha cap modificació a la peroxidació lipídica. Lleugera disminució de l'oxidació de les proteïnes	(Munekata et al., 2017)

Pell i fulles de la castanya	0,1% (p/p)	paté de porc	Valor de pH més baix. Menys compostos volàtils derivats dels lípids. Disminueix el nivell d'índex de peròxid. Disminueix la peroxidació lipídica.	(Pateiro, Lorenzo, Amado, & Franco, 2014)
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	0,2% (p/p)	Empanades de cabra cuinades	El contingut total d'amines heterocícliques es va reduir depenent de la temperatura de cocció.	(Khan et al., 2019)
Fulla de la cirera i de la grosella negra	0,5% (cirera) 1% (grosella) (p/p)	Salsitxes de porc	El contingut polifenòlic que es va trobar a l'extracte de fulla de cirera era 1,5 vegades superior a la de grosella. Provoquen una generació de tenamfetamina, indica efecte antioxidant. Van augmentar la vida útil. Milloren la qualitat microbiana durant 14 dies.	(Nowak, Czyzowska, Efenberger, & Krala, 2016)
Pell de la magrana	0,5% i 1% (p/p)	Mandonguilles de carn congelades	Reducció de l'oxidació de lípids i proteïnes i millora sensorial.	(Turgut, Işıkcı, & Soyer, 2017)

De les flors esmentades anteriorment i que ja són utilitzades per la societat en el dia a dia en l'elaboració de plats càrnics, tant per guarniment com per donar sabor, són: Lila, lavanda, fulla de ceba i hibiscus. Aquestes són les elegides tenint en compte el color lila.

Gràcies a la reserca bibliogràfica, observem altres extractes vegetals que s'han fet servir en estudis relacionants i que ens serveixen de referencia per acabar d'escollir l'extracte.

Finalment per fer l'experiment s'utilitzarà el Hibiscus i la lavanda ja que són dos flors que ja estan d'alguna manera introduïdes en l'alimentació i també perquè en els estudis observats anteriorment han estat usades, aportant bons resultats.

A més a més, també utilitzarem les llavors de Baobab ja que ja té diversos usos a la indústria alimentaria i farmacèutica.

1.3.3. *Hibiscus sabdariffa*

La *Hibiscus sabdariffa* és una planta pertanyent al gènere dels Hibiscus de la família de les malvàcies. Comunment se'l coneix com Flor de Jamaica o Rosa de Jamaica. És una planta originària de l'Àfrica Tropical. Les seves múltiples propietats medicinals i cosmètiques han fet que es popularitzi molt i es conreïni extensament en parts d'Amèrica Central i Amèrica del Sud.

El consum tradicional de *H. sabdariffa* en forma d'infusió s'ha associat a diferents propietats terapèutiques. *H. sabdariffa* té la capacitat de capturar radicals lliures inhibint, per exemple, l'oxidació de lipoproteïnes de baixa densitat (LDL). A més a més, el consum diari de l'extracte de *H. sabdariffa* sembla que podria millorar significativament la pressió sanguínea en pacients pre- i mitjanament hipertensos, i amb diabetes tipus 2. Per altra banda, el consum de *H. sabdariffa* podria millorar el perfil lipídic, reduint els valors de colesterol totals, LDL i triglicèrids totals. Les antocianines de *H. sabdariffa* han demostrat una capacitat per inhibir la oxidació de les LDL i la possible reducció del risc de aterosclerosi. (Fullerton et al., 2011)

Un dels experiments realitzats va ser estudiar els resultats que donava aquest extracte en carn picada de vedella. El que es volia veure amb aquest experiment era el poder que tenia com anti-*Campylobacter*, anti-aeròbic i antioxidant. Els resultats obtinguts van ser positius ja que es va determinar una inhibició de la supervivència, i el creixement, dels aeròbics i espècies de

Campylobacter, les més susceptibles, i també una disminució dels nivells d'oxidació dels lípids en la carn de vedella. (Yin & Chao, 2008)

1.3.4. Lavanda (*Lavandula angustifolia*)

La lavanda és un arbust de fulla perenne originari del nord de Àfrica i altres regions muntanyoses del Mediterrani. Creix en tot el sud d' Europa, Estats Units i Austràlia. L'oli essencial de lavanda s'ha utilitzat des de la antiguitat i es coneguda per les seves propietats antiinflamatòries, antidepressives, antisèptiques, antifúngiques i antimicrobianes (Soheili et al ., 2019).

El seu aroma inconfusible ha convertit aquesta planta en un precedent en l'aromateràpia. A França és molt utilitzada per elaborar perfums i aigües de colònia. També s'utilitza per perfumar i espantar els insectes d'armaris i calaixos, en els quals es col·loca un saquet amb flors de lavanda.

1.3.5. Baobab (*baobab africà L.*)

És un gènere de la família *Malvaceae*, subfamília *Bombacoideae*. Té molts noms locals diferents, i el més comú és l'Elefant de Fusta d'Àfrica. Es considera un arbre molt notable amb diversos estudis que ho destaquen. Està adaptat a zones amb poca pluja a l'Àfrica.

Compta amb diversos usos a la indústria alimentària i farmacèutica. La polpa de la fruita té un color blanc i conté un alt percentatge de vitamina C. A part, té un potencial significatiu per millorar les dietes humanes (Abdelhai, Tahir, Zhang, Yang, & Ahima, 2019). La vitamina C és un dels principals antioxidants, és un compost natural i és segura per als éssers humans, els animals i el medi ambient.

1.4. Qualitat de la carn

La composició química de la carn, majoritàriament, és 75% aigua, 19% proteïnes, 2.5% greix, 1.2% carbohidrats, 1.65% de compostos solubles, 0.65 compostos inorgànics i una quantitat important de vitamines, sobre tot vitamina B. Aquests percentatges poden variar depenent de l'animal, espècie o raça.

El que es busca quan es ven un producte, principalment, és obtenir un aliment amb una bona qualitat tant, nutritiva, organolèptica com innocua. Per tant, per determinar quins atributs són



importants per obtenir una alta qualitat i seguretat dels aliments s'han de tenir presents certs aspectes de la carn.

1.4.1. Microbiologia de la carn

La aparició de microorganismes en la carn pot ser per dos vies: Contaminació primària o contaminació secundària. (Taula 1-2)

- Contaminació primària: Quan l'animal està viu. Es pot produir per diferents vies: boca, tracte intestinal, glàndula mamària, etc. Els òrgans que poden tenir microorganismes són el fetge i la vesícula biliar.
- Contaminació secundària: Durant el sacrifici i la manipulació posterior. Es pot produir contaminació a través del terra, bassals, flora superficial, mala higiene dels utensilis utilitzats, això seria durant el sacrifici. Pel que fa al procés de preparació per la venda, podem trobar contaminació en els ingredients ingredients que es fan servir per elaborar determinats productes càrnics, en el contacte amb la maquinària, a les mans, a la roba dels treballadors, etc. I també a l'aigua i l'aire del magatzem.

Taula 1-2 Possibles microorganismes en la carn

Contaminació	Microorganisme
Primària	<i>Bacillus antacis</i>
	<i>Mycobacterium bovis</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Brucella abortus</i>
	<i>B. suis</i>
	<i>B. melitensis</i>
	<i>Listeria monocytogenes</i>
	<i>Campilobacter jejuni</i>
	<i>Leptospira spp</i>
	<i>Salmonella spp</i>
	<i>Micrococcus sp</i>
Secundària	<i>Streptococcus faecalis</i>
	<i>Lactobacillus</i>
	<i>Bacillus</i>
	<i>Enterobacterias</i>
	<i>Clostridium perfringens</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>

1.4.1.1. Creixement microbià

El creixement microbià depen, sobretot, dels efectes ambientals. Depenent del microorganisme té unes característiques o unes altres. A la Taula 1-3, s'observa la classificació dels efectes que afavoreixen el creixement microbià.

Taula 1-3 Controls de la carn

Intrínsecs	Paràmetres fisicoquímics i bioquímics	Valor Nutritiu
		pH
		Activitat de l'aigua
		Potencial REDOX
Extrínsecs	Paràmetres de l'ambient	Temperatura
		Humitat
		Tensió d'oxigen
Implícits	Paràmetres per relacions entre microorganismes	Antagonisme
		Sinergisme

1.4.2. Límits microbiològics en la carn

Tots els aliments han d'assegurar un nivell alt de protecció per la salut pública, per tant, els productes alimentaris no han de tenir microorganismes, ni toxines o metabòlits, en quantitats que suposin un risc inacceptable per la salut humana. A partir d'aquí es van delimitar uns paràmetres que no es poden superar per a poder ser comercialitzats.

En el cas de la carn picada com veiem a la (Taula 1-4) tenim els límits de cada microorganisme.

Taula 1-4 Límits (Diario Oficial de la Unión Europea.)

Productes càrnics semielaborats a base de carn picada (refrigerats, congelats)		
Carn picada de vedella, porcí i altres espècies	Aerobis i anaerobis facultatius	5×10^6 ufc/g
	Coliforms	Absència en 0,0001 g
	Salmonella	Absència en 25 g
	Listeria monocytogenes	Absència en 25 g

2. Objectius

L'objectiu d'aquest projecte és demostrar que l'addició d' extractes de pètals de flors comestibles i llavor de baobab en carn picada ens ajuda a augmentar la vida útil de les hamburgueses.

Per tal de dur a terme aquest objectiu es realitzen els següents objectius secundaris,

- Recerca de possibles pètals de flors i altres possibles extractes mitjançant una revisió bibliogràfica i caracterització.
- Selecció de la idoneïtat dels extractes i de les concentracions adients per la seva aplicació en hamburgueses.
- Estudi de la vida útil i qualitat de les hamburgueses dosificades amb extractes vegetals i comparació amb l'additiu E-223 .

3. Materials i Mètodes

3.1. Matèries primeres

La carn utilitzada per aquest treball és carn de vedella procedent de la empresa “Indukern”. Primer de tot vem pesar la quantitat a utilitzar per a cada repetició, la vam picar i congelar per treballar-la el dia adient. S’ha de tenir en compte que la carn utilitzada en les tres repeticions venia de tres canals diferents.

Les flors de lavanda comprades al herbolari (Cunill Herbodietètica) i Hibiscus, estaven dessecades, per poder ser utilitzades directament, només s’havien de triturar abans d’utilitzar.

El Baobab utilitzat, obtingut de la empresa “La Perla”, són llavors de Baobab ja triturades

3.2. Fase 1: Selecció dels extractes de flors i la seva dosi per l’addició a hamburgueses

Aquesta primera fase té com a objectiu determinar quina serà la concentració que utilitzarem finalment en l’experiment, i veure si els pètals escollits són acceptats a nivell sensorial per incorporar-los a la carn. Per comprovar l’acceptabilitat de les espècies i concentracions assajades es realitzen controls de pH, de color i sensorial.

Amb el control de pH el que es vol observar és si la pujada o baixada del pH en referència al pH de la carn, és un factor que alteri el producte final de manera negativa que pugui aportar una no acceptabilitat. En el cas del color és molt important ja que, un color fora del estàndard de la carn pot comportar un problema de rebuig i al afegir extractes de flors pot oferir una coloració no agradable. Per últim el control sensorial, es realitza per veure si els extractes aporten a les hamburgueses un aroma i flavor desagradables per al consum.

La fase 1 està dividida en dos dies consecutius, on es realitzen proves amb diferents concentracions i els controls es portaran a terme el dia següent de la realització de les hamburgueses.



3.2.1. Matèries primeres càrnies, ingredients i additius

El primer dia es realitzen les proves, com veiem a la Taula 3-1, amb les concentracions 2,5%, 5% i 10% (w/w). Aquestes concentracions han estat escollides a partir dels experiments vistos en l'apartat (1.3.2 Extractes vegetals en la carn). Hem utilitzat aquestes per la seva alta concentració d'extracte ja que, a més extracte, més poder antioxidant.

Taula 3-1 Formulacions de les hamburgueses 2,5% 5% i 10%

	Hibiscus			Lavanda			Baobab		
	2,50%	5%	10%	2,50%	5%	10%	2,50%	5%	10%
Carn	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73
Greix	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73
Sal	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54
Hibiscus	0,75	1,5	3	-	-	-	-	-	-
Lavanda	-	-	-	0,75	1,5	3	-	-	-
Baobab	-	-	-	-	-	-	0,75	1,5	3

En el segon dia es van realitzar tres proves més, baixant les concentracions del dia anterior (Taula 3-2). Aquesta baixada d'extracte es deu a que les concentracions anteriors, a l'hora de la realització dels controls, vem obtenir una mala acceptabilitat (Apartat 4. Resultats)

Taula 3-2 Formulacions 0,5% 1% i 2%

	Hibiscus			Lavanda			Baobab		
	0,50%	1%	2%	0,50%	1%	2%	0,50%	1%	2%
Carn	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73	20,73
Greix	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73	8,73
Sal	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54
Hibiscus	0,15	0,3	0,6	-	-	-	-	-	-
Lavanda	-	-	-	0,15	0,3	0,6	-	-	-
Baobab	-	-	-	-	-	-	0,15	0,3	0,6

3.2.2. Diagrama de flux

En la (Figura 3.1) veiem el diagrama de flux de la fase 1.

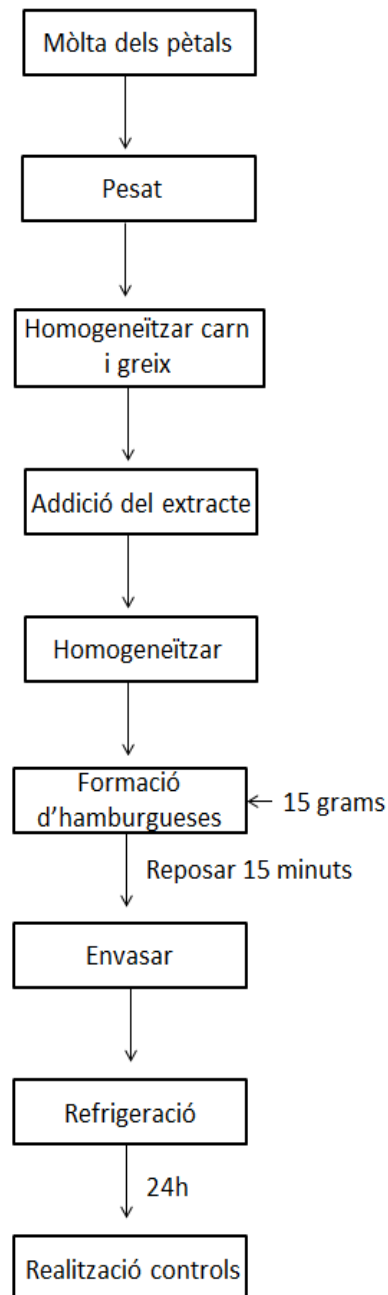


Figura 3.1: Diagrama de flux fase 1

3.2.3. Procediments

Triturar els extractes de flor amb el moli de cafè (Jata ML130, amb una potència de 150 w i capacitat de 70 grams). Un cop els tenim triturats els pesem amb una balança granetari per separat, igual que la sal, en recipients separats. Per altre banda homogeneïtzem la carn, el greix i posteriorment la sal. Afegir el extracte de pètal i pastar uns 10 minuts fins aconseguir una bona homogeneïtzació. Formem les hamburgueses amb un pes de 15 grams cada una, un cop fetes les deixem reposar 15 minuts. Passat aquest temps les envasem amb la termoselladora en unes barquetes barquetes ETIMEX CONVINA PP Barrier Tray Ref. 8087. i film (FILM TERMOSELLANTE sobre PP codi P12-6070BXSTNP). Un cop totes sellades s'han de guardar en refrigeració fins els dia següent quan es fan els controls per poder veure l'acceptabilitat.

3.3. Fase 2: Estudi de vida útil d'hamburgueses amb extractes de flors

Un cop feta la fase 1, ja tenim les concentracions finals dels extractes de pètal que utilitzarem per dur a terme aquesta segona fase. Aquest experiment es fa per triplicat per a poder comparar i tenir un resultat final acceptable.

En el experiment hi haurà 4 tipus d'hamburguesa:

- Blanc o control: No porta cap additiu.
- Extracte Hibiscus: Amb una concentració del 1%
- Extracte de Baobab: Amb una concentració del 2,5%
- Additiu sintètic: Utilitzarem el E-223, metabisulfit sòdic, és un additiu conservant. Amb una concentració de 0,003%.

Els paràmetres de control, a més a més, del pH, color i sensorial afegim el microbiològic. Tots aquest controls es realitzaran en un període de 10 dies, com veiem a la (Taula 3-2), aquests són situats a diferents dies, per poder veure la evolució de cada al llarg del temps.

Taula 3-3 Realització de controls (Unitat de temps expressat en dies)

t=0	t=1	t=3	t=6	t=10
Microbiològic	pH/ Color/ Sensorial	Microbiològic/pH/ Color/ Sensorial	Microbiològic/pH/ Color/ Sensorial	Microbiològic/ pH/ Color

3.3.1. Matèries primeres càrnies, ingredients i additius

Cada hamburguesa té un pes de 15 grams, com es fan controls diferents dies, s'hauran de preparar hamburgueses per poder realitzar tots els controls durant al llarg de tot l'experiment, el total de hamburgueses necessàries per cada extracte, serà de 16 unitats. Veiem, doncs, a la (Taula 3-4), les quantitats totals de cada matèria per dur a terme la realització de totes elles .

Taula 3-4 Formulació experiment

	Experiment			
	Control	Baobab	Hibiscus	Additius
carn	165,84 grams	165,84 grams	165,84 grams	165,84 grams
Greix	69,84 grams	69,84 grams	69,84 grams	69,84 grams
sal	4,32 grams	4,32 grams	4,32 grams	4,32 grams
pètal 1	-	6 grams	-	-
pètal 2	-	-	2,4 grams	-
Metabisulfit sòdic	-	-	-	0,72 grams

3.3.2. Diagrama de flux

En la (Figura 3.2) veiem el diagrama de flux de la fase 2. En el últim punt, “realització controls”, s’ha de tenir en compte que els controls es porten a terme en diferents dies.

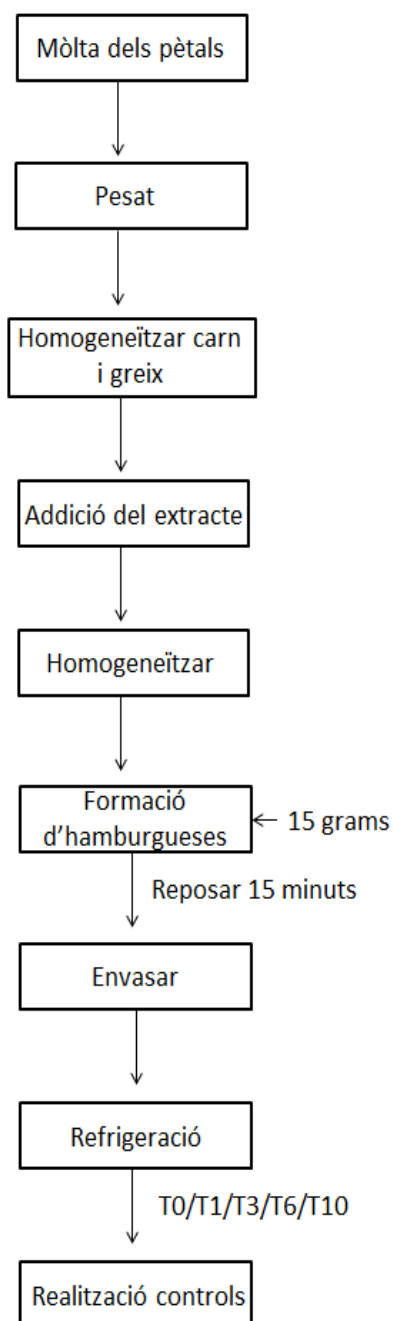


Figura 3.2: Diagrama de flux fase 2

3.3.3. Procediments

Triturar els extractes de flor amb el moli de cafè (Jata ML130, amb una potència de 150 w i capacitat de 70 grams), un cop els tenim triturats els pesem, igual que la sal, en recipients separats. Per altre banda homogeneïtzem la carn, el greix i posteriorment la sal. Afegim l'extracte de pètal i pastem uns 10 minuts, fins aconseguir una bona homogeneïtzació. Fem les hamburgueses amb un pes de 15 grams cada una i les deixem reposar 15 minuts. Passat aquest temps les envasem amb la termoselladora en barquetes barquetes ETIMEX CONVINA PP Barrier Tray Ref. 8087. i film (FILM TERMOSELLANTE sobre PP codi P12-6070BXSTNP). Un cop estan totes sellades les guardem en refrigeració i treient les barquetes necessàries el dies que hi hagi control.

3.4. Realització de controls

3.4.1. pH

Calibrem el pH-metre CRISON GLP-20 utilitzant els buffers de 4 i 7 pH. Pesem 15 grams de mostra, en aquest cas és una hamburguesa sencera i afegim 25 ml d'aigua destil·lada i triturem a velocitat màxima amb la batedora de braç elèctrica; un cop ben homogeneïtzat ho deixem reposar 10 minuts abans de fer la lectura del pH.

3.4.2. Color

L'equip emprat per analitzar el color és el colorímetre CR-400 de l'empresa MINOLTA. El mètode que utilitzarem per a la mesura de color és el il·luminant D65 i, un cop feta la calibració, fem una mesura del blanc per acceptar la calibració. La lectura ens proporciona els valors dels paràmetres del sistema CIELAB: L* (Il·luminositat), a* indica el color vermell (+) o verd (-), i la b* groc (+) o blau (-). També ens indica ΔE^* que ens dona el valor de diferència de color total.

Un cop realitzada la preparació del pH-metre, comencem amb les lectures de les hamburgueses. Es faran dues per a cada hamburguesa: es col·loca l'equip sobre la mostra sense treure-la de la barqueta cobrint la superfície del colorímetre, recta i sense moure a l'hora de fer la lectura.



Quan ja tenim les mesures fetes haurem de calcular el angle de Hue (h) i el Chroma (C*). Aquets valors corresponen respectivament amb el to o matis (Hue) i el cromà (C*). El valor de h es l'angle del to, i s'expressa en graus que van de 0° (inclòs) a 360° (exclòs).

Per a calcular aquests valors ho farem a partir de:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$h = \arctan (b^* / a^*)$$

3.4.3. Sensorial

El anàlisi sensorial es l'aplicació del mètode científic utilitzant essers vius com a instrument de mesura per poder avaluar les característiques organolèptiques del producte. Es cuinen les hamburgueses a foc mig (nivell 5,5 de la cuina utilitzada) i es fa un tast d'acceptabilitat on es té en compte el color, aspecte i flavor.

3.4.4. Microbiològic

L'anàlisi microbiològic es realitza per localitzar una possible contaminació i quina quantitat podem trobar a la mostra. Aquest control el realitzem a partir de la sembra en placa amb ajuda d'un banc de dilucions que anem variant a mesura que passen els dies de vida de l'hamburguesa.

3.4.4.1. Fonaments dels medis de cultiu

El PCA serveix per l'enumeració aeròbica en plaques, ja que es un medi general on hi poden créixer tot tipus de microorganismes. Segons la llei UNE-EN ISO 4833-1:2014 (Microbiologia de la cadena alimentaria. Mètode horitzontal per el recompte de microorganismes), el recompte de colònies a 31° durant 76h a la estufa i d'aquesta manera sabem que creixeran mesòfils, són els microorganismes que creixen entre 30°C-35°C temperatura òptima i com a màxim poden arribar a créixer sobre els 45°C.

3.4.4.2. Procediment

El dia abans del dia que toca realitzar el control preparar PCA i aigua de peptona (segons etiquetatge) i posar en pots. Afegir 9 ml d'aigua de peptona en els tubs d'assaig per preparar el

banc de dilucions i autoclavar els pots PCA i d'aigua de peptona, els tubs d'assaig, la proveta i les pipetes de 1 ml. Deixar refredar a temperatura ambient i guardar en refrigeració fins el dia següent, escalfarem els pots de PCA i aigua de peptona en el bany termostàtic a 45°C mentre esterilitzem la zona de treball, i tot el material a utilitzar, i identifiquem les plaques. Un cop tenim tot el material preparat posem l'hamburguesa de 15 grams en una bossa d'Stomacher, sempre a prop del encenedor bunsen, i afegim 135 ml de solució d'aigua de peptona i homogeneïtzar amb l'Stomacher durant 2 min. Fem dos hamburguesa de cada extracte, en total 8. Obtenim així la dilució 10^{-1} . Directament de la bossa d'Stomacher pipetejar amb la micropipeta 1ml i afegir-lo al primer tub d'assaig on hi ha 9 ml d' aigua de peptona i homogeneïtzar amb ajuda del vòrtex d'aquesta manera tenim la dilució 10^{-2} . D'aquest tub pipetegem 1 ml i el posem al segon i així fins obtenir les dilucions desitjades i ja tindrem el banc de dilucions. Escollim dos dilucions, depèn del dia en que ens trobem, i pipetegem 1 ml i l' afegim a la placa de petri i reomplim amb PCA, fins la mitat de la placa, aquest procés el fem per duplicat, de tal manera que, ens quedaran 2 plaques de cada dilució. Un cop tenim les 4 plaques omplertes movem la placa amb compte i en forma de vuit, per homogeneïtzar bé, i deixem solidificar. Un cop acabades totes les plaques les guardem, de manera inversa, a l'estufa a 31°C durant 76h. Passades aquestes hores farem el recompte.

3.5. Caracterització

3.5.1. Extracció dels fenols

Per a poder dur a terme la caracterització d'aquests extractes els productes han de ser líquids, per això hem de fer una extracció dels fenols.

El mètode que utilitzem consisteix en agafar 0,5 grams de l'extracte en pols i afegir-hi 20 ml de metanol acidificat (0,01% HCL), portar-ho al vòrtex 60 segons i traspasar aquets 20 ml a un pot de centrifuga amb el sediment. Tornar a afegir 20 ml de metanol acidificat i 60 segons més al vòrtex, afegim aquets 20 ml amb els anteriors, ho centrifuguem 15 minuts a 3400 rpm. Ha de ser un valor conegut, per tant ho enrasem a 50 ml. Tot això ho fem per triplicat i al tenir dos extractes (Baobab i Hibiscus) al final tindrem 6 mostres.



3.5.2. Determinació dels fenols totals (Folin-Ciocalteu)

El mètode Folin – Ciocalteu és un mètode molt utilitzat de mesura dels polifenols totals de vegetals, fruites o aliments derivats. El mètode espectrofotomètric Folin - Ciocalteu es basa en la interacció dels polifenols amb el reactiu de Folin en medi de carbonat de sodi (20%). El reactiu Folin es una mescla d'àcid fosfotungstic ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) i àcid fosfomolibdic ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Aquest reactiu redueix els compostos fenòlics. La interacció entre els reactiu Folin i els polifenols dona un rang de colors que va del incolor a un blau fosc, i el contingut de polifenols es proporcional a la intensitat del color dels tres components. El color es mesurat amb l'espectrofotòmetre (UV-160, Shimadzu) a una longitud d'ona de 765nm, que és el punt màxim d'absorció del compost format (Zoecklein, 2001).

Realitzem una recta de calibrat del mètode amb àcid gàl·lic, que és un àcid fenòlic i mesurant l'absorbància de les diferents concentracions (765nm). Es fan servir les concentracions de 50, 100, 250 i 500 mg/L per obtenir la recta de calibrat. Obtindrem el valor de polifenols totals equivalents a àcid gàl·lic (GAE) i amb una $R^2 = 0,9986$

4. Resultats

4.1. Fase 1

En la fase 1 s'ha fet un anàlisi sensorial per veure la dosi adient per a cada extracte com veiem a la (Taula 4-1). Les concentracions de baobab donen uns resultats positius en els tres factors, excepte en la concentració del 10% on la textura no acaba de ser correcta. En el cas del Hibiscus, la dosi és molt important ja que, a dosi més grans hi ha problemes perquè dona un sabor no relacionat amb la carn de vedella. Pel que fa la textura, quan la dosi augmenta hi ha una sobrecarrega d'extracte donant textura arenosa, doncs amb el tractament d'Hibiscus tenim acceptabilitat en 1% i 0,5%. En la Lavanda hi ha molts problemes tant de sabor como olor en totes les dosis. És una flor aromàtica que té un olor característic i present en totes les concentracions, passa el mateix amb el sabor, per això no es va continuar amb la Lavanda en la fase 2.

Taula 4-1 Resultats anàlisi sensorial fase 1

Tractaments	DOSI (%)	OLOR	SABOR	TEXTURA
Baobab	0,5%	Aceptable	Aceptable	Bona
	1%	Aceptable	Aceptable	Bona
	2%	Aceptable	Aceptable	Bona
	2,5%	Aceptable	Aceptable	Bona
	5%	Aceptable	Aceptable	Bona
	10%	Aceptable	Aceptable	Farinosa/es trenca
Hibiscus	0,5%	Aceptable	Aceptable	Bona
	1%	Aceptable	Aceptable	Bona
	2%	Aceptable	Dona una mica de sabor	Bona, es nota arenositat
	2,5%	Aceptable	Dona una mica de sabor	Aceptable, arenositat
	5%	Aceptable	Dona sabor	Arenositat
	10%	Aceptable	No Acceptable	Molta arenositat
Lavanda	0,5%	No Acceptable	No Acceptable	Bona
	1%	No Acceptable	No Acceptable	Bona
	2%	No Acceptable	No Acceptable	Bona
	2,5%	No Acceptable	No Acceptable	Bona
	5%	No Acceptable	No Acceptable	Bona
	10%	No Acceptable	No Acceptable	Bona

4.1.1. Polifenols totals

Els resultats obtinguts a partir del mètode de Folin-Ciocalteu són, en el cas del extracte d'Hibiscus $15,20 \pm 0,390$ mg GAE eq/ g d'Hibiscus.

En el cas del Baobab obtenim un $23,56 \pm 2,60$ mg GAE eq/ g de Baobab.

Podem observar que el Baobab té més quantitat de polifenols totals en el extracte que no pas el Hibiscus.

4.2. Fase 2

4.2.1. pH

Els resultats de pH es veuen representats en la Taula (4-2). Tant el pH del tractament amb Baobab i amb Hibiscus comença amb un valor inferior del control, a diferencia del tractament amb E-223 que comença al mateix nivell de pH, amb una diferencia de 0,5.

A dia 03 els pH es mantenen pràcticament igual que a dia 01, per tant, no s'observa cap canvi. A partir de dia 06 el pH del control comença a baixar significativament, en canvi els altres tres tractaments el pH es segueix mantenint. Per últim, a dia 10, tots tenen una baixada de pH, el tractament amb additiu la baixada és casi insignificant de 0,07 en comparació amb el control, baobab i hibiscus, que tenen una baixada molt similar entre un 0,20-0,25 (Figura 4.1)

Taula 4-2 Evolució dels paràmetres de pH en les hamburgueses.

Mitjana amb desviació estàndard(n=9)^{abcd} són significativament diferents P< 0,05(ANOVA dos factors: tractament x temps)

	CONTROL	E-223	BAOBAB	HIBISCUS
DIA 01	5,81 ± 0,10 ^a	5,87 ± 0,12 ^a	5,30 ± 0,10 ^{cd}	5,28 ± 0,02 ^{cd}
DIA 03	5,80 ± 0,16 ^a	5,85 ± 0,18 ^a	5,35 ± 0,11 ^{cd}	5,36 ± 0,12 ^{cd}
DIA 06	5,68 ± 0,14 ^{ab}	5,85 ± 0,15 ^a	5,28 ± 0,10 ^{cd}	5,30 ± 0,13 ^{cd}
DIA 10	5,44 ± 0,05 ^{bc}	5,78 ± 0,04 ^{ab}	5,09 ± 0,04 ^d	5,07 ± 0,03 ^d

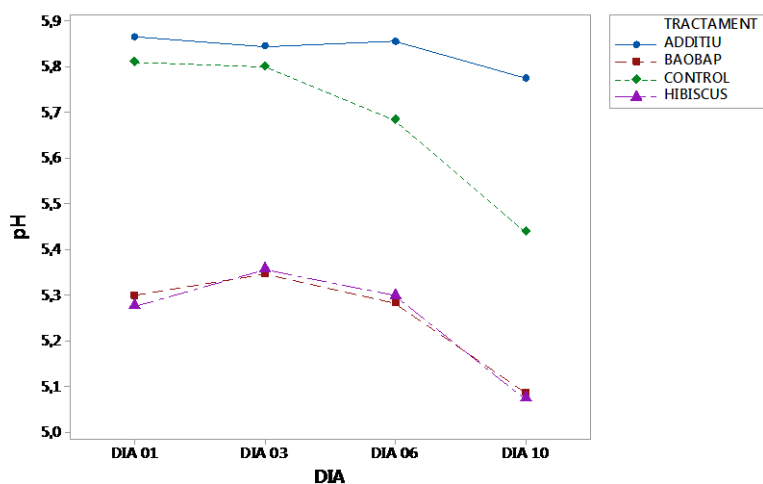


Figura 4.1: Evolució del pH al llarg de l'experiment

4.2.2. Color

Els resultats del color es presenten a la Taula (4-3). Com veiem hi ha diferències significatives al llarg de l'experiment sobre tot en el cas del control on tots els paràmetres varien. Pel que fa el E-223 es manté constant durant tot el període menys amb el Croma i en el dia 10 si que es veu un canvi significatiu de 6 unitats. Veiem que el Baobab en dia 01 i 03 té un comportament similar al control, el Baobab en dia 6 no experimenta canvis més grans de 2 unitats, en canvi a dia 10 si que s'observen variacions significatives tant en l'angle de Hue com en el Croma, amb un salt de 18 i 9 respectivament. Pel que fa el Hibiscus, des de dia 01 ja veiem una diferència entre els altres tres, ja que tant el Angle de Hue, amb una baixada de 9 unitats, i el Croma amb una baixada de 10 unitats, ens deixa veure que el color és significativament diferent, com també podem veure a la (Figura 4.2).

Taula 4-3 Evolució dels paràmetres de color en les hamburgueses

Mitjana desviació estàndard. (n=12) i (n=8 additiu) ^{abcdefgkij} són significativament diferents $P < 0,05$ (ANOVA dos factors: tractament x temps)

	Hue	Croma	L*	ΔE^*
DIA 01				
E-223	28,38 \pm 0,45 ^d	29,05 \pm 1,70 ^a	45,72 \pm 0,75 ^{efg}	36,06 \pm 4,15 ^a
BAOBAP	31,47 \pm 0,58 ^d	25,37 \pm 1,03 ^{bc}	48,59 \pm 0,71 ^{bcd}	34,55 \pm 2,96 ^a
CONTROL	29,85 \pm 0,74 ^d	25,83 \pm 1,05 ^b	43,71 \pm 0,82 ^{hi}	32,25 \pm 2,11 ^{bc}
HIBISCUS	21,53 \pm 0,45 ^{ef}	14,38 \pm 0,64 ^f	43,21 \pm 0,59 ^{hij}	23,09 \pm 2,05 ^f
DIA 03				
E-223	27,82 \pm 0,41 ^{de}	29,06 \pm 1,16 ^a	44,45 \pm 0,52 ^{gh}	35,13 \pm 3,03 ^a
BAOBAP	32,06 \pm 0,68 ^d	23,18 \pm 0,55 ^{cd}	49,41 \pm 0,39 ^{abc}	33,78 \pm 1,29 ^{ab}
CONTROL	31,56 \pm 0,26 ^{bc}	21,94 \pm 1,40 ^{de}	45,78 \pm 0,70 ^{fg}	30,42 \pm 4,61 ^{cd}
HIBISCUS	17,92 \pm 3,49 ^f	13,71 \pm 1,09 ^{fg}	40,16 \pm 0,50 ^k	20,64 \pm 2,53 ^g
DIA 06				
E-223	29,71 \pm 0,81 ^d	25,33 \pm 1,16 ^{bc}	44,53 \pm 0,53 ^{gh}	32,92 \pm 2,64 ^{bc}
BAOBAP	34,28 \pm 0,67 ^d	21,85 \pm 0,71 ^{de}	46,96 \pm 0,53 ^{def}	31,15 \pm 2,02 ^c
CONTROL	49,16 \pm 3,92 ^d	15,57 \pm 1,29 ^f	47,71 \pm 0,99 ^{cde}	28,06 \pm 2,11 ^e
HIBISCUS	29,90 \pm 2,03 ^d	11,71 \pm 0,75 ^{gh}	41,56 \pm 0,90 ^{jk}	20,46 \pm 2,80 ^g
DIA 10				
E-223	34,23 \pm 1,25 ^d	19,80 \pm 1,03 ^e	45,78 \pm 0,52 ^{efg}	29,92 \pm 2,20 ^{cde}
BAOBAP	52,93 \pm 1,73 ^b	13,48 \pm 0,26 ^{fg}	49,81 \pm 0,38 ^{ab}	28,58 \pm 0,86 ^{de}
CONTROL	70,05 \pm 1,13 ^a	14,20 \pm 0,40 ^{fg}	51,17 \pm 0,45 ^a	30,16 \pm 1,27 ^{cde}
HIBISCUS	44,11 \pm 5,03 ^c	10,43 \pm 0,46 ^h	42,20 \pm 0,72 ^{ij}	20,04 \pm 2,99 ^g

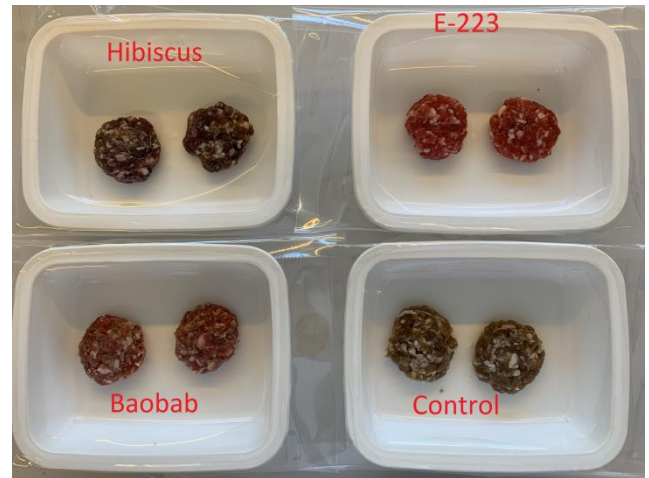
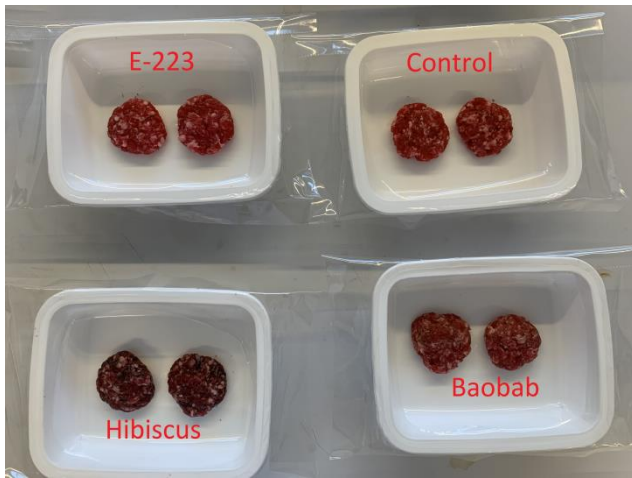
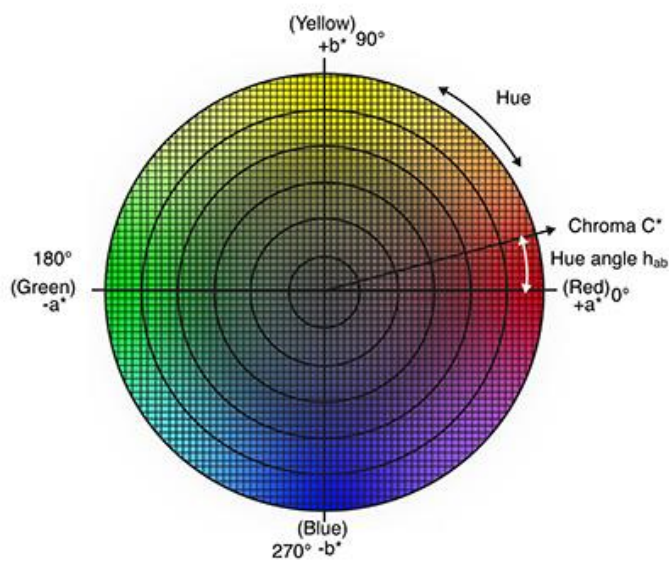


Figura 4.2: Hamburgueses dia 01 (esquerra) i dia 10 (dreta)



A partir de la (Figura 4.3) podem localitzar les diferents hamburgueses dins del gràfic, com veiem el valor del Croma del Hibiscus és més baix per tant estarà més al interior respecte els altres tres, a partir del angle de Hue observem que al principi tots estan a un color vermell, mentre que, a mesura que passen els dies va augmentant de manera que tendeix cap el color groguenc.

Figura 4.3: Gràfica sistema CIELAB (L^* a^* b^*)

4.2.3. Sensorial

Els resultats de la fase 2: en el control, en els dos primers dies els 4 factors són correctes i tenen una bona acceptabilitat. A partir de dia 6, el olor al obrir la barqueta, on es trobaven, no era agradable i el color tampoc. Es va decidir no portar-ho a cocció per seguretat, igual que a dia 10. El E-223, obtenim un bons resultats tots els dies sense veure canvis significatius no acceptables. En el cas del Baobab tenim uns bons resultats fins a dia 6, tot i que el color no fos del tot correcte, en canvi a dia 10 passa el mateix que el control, una olor desagradable al obrir, per tant tampoc es va portar a cocció. Per últim, amb l'Hibiscus els resultats són positius; té una acceptabilitat en tots els dies de control tot i que el color, a dia 10, varia respecte els dies anteriors. Tot i així no es un aspecte negatiu. (Taula 4-4)

Taula 4-4 Resultats anàlisi sensorial fase 2

Tractament	Dia	OLOR	SABOR	TEXTURA	COLOR
Control	Dia 1	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 3	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 6	Desagradable	-	-	Desagradable
	Dia 10	Desagradable	-	-	Desagradable
E-223	Dia 1	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 3	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 6	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 10	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
Baobab	Dia 1	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 3	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 6	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Pàl·lid
	Dia 10	Desagradable	-	-	Desagradable
Hibiscus	Dia 1	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 3	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 6	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
	Dia 10	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Pàl·lid

4.2.4. Anàlisi microbiològic

Els resultats obtinguts a dia 0 en els quatre tractaments es mouen per els mateixos valors. Els canvis significatius es comencen a veure a partir del dia 3, en el cas del Baobab i el control, mentre que el Hibiscus i el additiu es mantenen pràcticament igual. A dia 06 veiem en tots els tractaments una pujada; en el cas del Control és de gairebé 2 log UFC, fet que fa que ja no sigui vàlid per el consum humà, ja que el límit imposat per la legislació es troba a 6,7 log UFC, per tant, el control a dia 06 amb una mitjana de 6,8 log UFC, ja no seria apte pel consum. En els altres tres també hi ha un creixement però menys dràstic, i tots tres dins del límit.

Per últim a dia 10 el control segueix creixent de manera important, s'observa que el creixement del Baobab també és important fins al punt d'estar fora del permès per la legislació. En canvi tant el hibiscos com el additiu presenten valors similars als del dia 06, i segueixen tenint una població d'aeròbics permesa per el consum humà. (Figura 4.2)

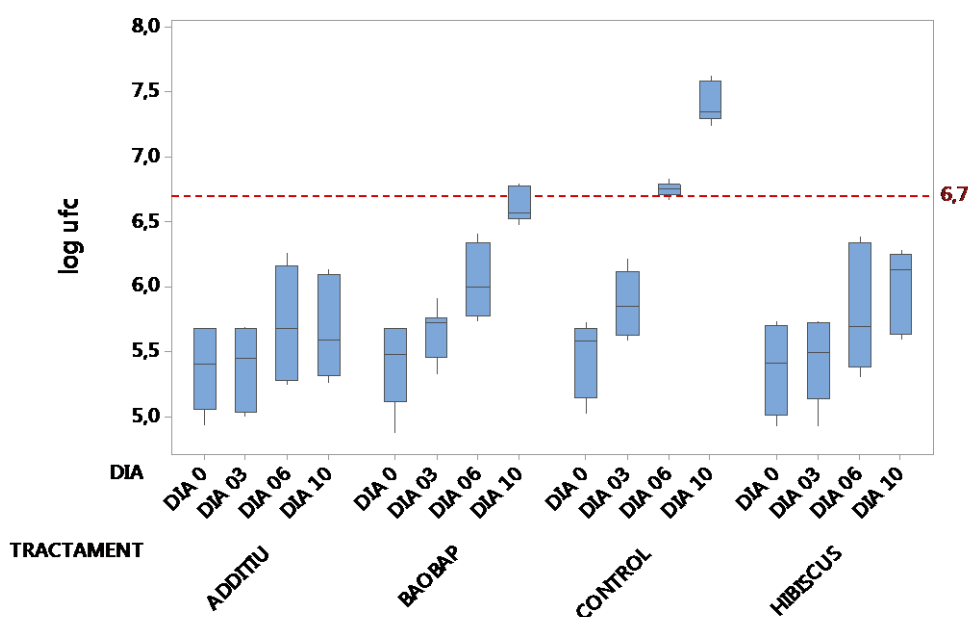


Figura 4.4: Gràfica de caixa la mitjana log UFC a través dels dies

5. Discussió

El Hibiscus dona uns resultats interessants, ja que en el REGLAMENT (CE) nº 2073/2005 DE LA COMISIÓ, ens diu que un aliment és apte pel consum humà fins a 5×10^6 UFC/g. Com hem vist als resultats de dia 10, no s'arriba aquest límit per tant és apte per consumir. Pel que fa el pH de productes càrnics, el que es dona com a apte és que estigui al voltant de 5,5 i les hamburgueses amb extracte d'Hibiscus dona per sota, fins a un valor de 5,3. Que tingui un valor inferior no ens indica un problema, si no que l'extracte ens canvia el pH, això és degut a que l'Hibiscus té un pH àcid (Fullerton et al., 2011), fet que afecta també al canvi de color, no s'obté el to vermell que estem acostumats a veure sinó un color més fosc, això podria ser una problemàtica ja que pot desagradar al consumidor, però hem de tenir en compte que el producte utilitzat com a conservant és d'origen vegetal, més concretament una flor de color vermell. Comparant amb els resultats de la bibliografia estudiada on utilitzen Hibiscus la concentració utilitzada està per sobre del 2,5% (Villasante, Girbal, Metón, & Almajano, 2019, Fullerton, Williams, Khatiwada, Johnson, & Davis, 2011). En el nostre experiment és inferior; això es deu a que quan utilitzàvem concentracions similars a aquests estudis ens donaven resultats sensorials no acceptables. Això ens va obligar a disminuir la quantitat. Tot i haver disminuït la concentració fins a 1% els resultats obtinguts són positius.

En el baobab els resultats no són els esperats, ja que al final només ens dona una vida útil de 6 dies: a partir d'aquest dia ja està per sobre del límit permès per la llei (5×10^6 UFC/g). En aquest cas el baobab no ens aporta coloració, per tant, té un color molt similar al control. Amb aquest extracte ens passa el mateix que amb l'Hibiscus: que el valor de pH és més baix del òptim per la carn picada, hem de tenir en compte que el baobab també té un pH àcid (Abdelhai et al., 2019), per tant com en el cas anterior no és un problema aquesta baixada de pH.

Conclusions

A partir dels resultats experimentals d'aquest treball es poden extreure les següents conclusions,

1. Dels tres extractes seleccionats es va descartar la lavanda pel canvi sensorial a nivell aromàtic que provocava a la dosi més baixa estudiada.
2. Els extractes vegetals escollits poden ser utilitzats en la carn picada com a conservant. En el cas de l'Hibiscus, tot i que aportí un color diferent al estàndard, pot ser un bon substitut del metabisulfit potàssic (E-223), ja que té un comportament similar a l'hora de reduir el creixement dels microorganismes aerobis.
3. En el cas del Baobab a dia 6 la vida útil arriba fins a dia 6, però el color que aporta a la carn és molt similar al control.

Bibliografia

- Abdelhai, M. H., Tahir, H. E., Zhang, Q., Yang, Q., & Ahima, J. (2019). Effects of the combination of Baobab (*Adansonia digitata* L.) and *Sporidiobolus pararoseus* Y16 on blue mold of apples caused by *Penicillium expansum*, Jiangsu: Jiangsu University.
- Devatkal, S. K., Thorat, P., & Manjunatha, M. (2014). Effect of vacuum packaging and pomegranate peel extract on quality aspects of ground goat meat and nuggets. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2685–2691. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0753-5>
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>
- Fullerton, M., Williams, L. L., Khatiwada, J., Johnson, J. U., & Davis, S. (2011). Determination of Antimicrobial Activity of Sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) on *Escherichia coli* O157:H7 Isolated from Food, Veterinary, and Clinical Samples . *Journal of Medicinal Food*, 14(9), 950–956. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0200>
- Hać-Szymańczuk, E., Cegiełka, A., Karkos, M., Gniewosz, M., & Piwowarek, K. (2018). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) preparations during storage of low-pressure mechanically separated meat (BAADER meat) from chickens. *Food Science and Biotechnology*, 28, 449–457. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0491-1>
- Hagerman, A.; Riedl, K.; Alexander Jones, G.; Sovik, K.; Ritchard, N.; Hartzfeld, P. and T. Riechel.1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal Agric. Food Chem.* Vol. 46, 1887-1892.
- Jia, N., Kong, B., Liu, Q., Diao, X., & Xia, X. (2012). Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. *Meat Science*, 91(4), 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.010>
- Jiang, J., & Xiong, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*, 120, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>
- Kähkönen, Marja; Anu I. Copia; Heikki J. Vuorela; Jussi- Pekka Rauha; Kalevi Piha-laja; Tutti S. Kujala and Marina Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal Agric. Food Chem.* Vol. 47, 3954 – 3962.
- Khan, I. A., Liu, D., Yao, M., Memon, A., Huang, J., & Huang, M. (2019). Inhibitory effect of *Chrysanthemum morifolium* flower extract on the formation of heterocyclic amines in goat meat patties cooked by various cooking methods and temperatures. *Meat Science*, 147(March 2018), 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.028>

- Kim, S. J., Cho, A. R., & Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, 29(1), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.060>
- MELENDEZ-MARTINEZ, Antonio J., VICARIO, Isabel M. y FRANCISCO J., Heredia. (2004). Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *ALAN*, vol.54. ISSN 0004-0622.
- MELENDEZ-MARTINEZ, Antonio J., VICARIO, Isabel M. y FRANCISCO J., Heredia. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *ALAN*, vol.51. ISSN 0004-0785.
- Munekata, P. E. S., Domínguez, R., Franco, D., Bermúdez, R., Trindade, M. A., & Lorenzo, J. M. (2017). Effect of natural antioxidants in Spanish salchichón elaborated with encapsulated n-3 long chain fatty acids in konjac glucomannan matrix. *Meat Science*, 124, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.002>
- Nieto, G., Jongberg, S., Andersen, M. L., & Skibsted, L. H. (2013). Thiol oxidation and protein cross-link formation during chill storage of pork patties added essential oil of oregano, rosemary, or garlic. *Meat Science*, 95(2), 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.016>
- Nowak, A., Czyzowska, A., Efenberger, M., & Krala, L. (2016). Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. *Food Microbiology*, 59, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.004>
- Pešić, M. B., Milinčić, D. D., Kostić, A., Stanisavljević, N. S., Vukotić, G. N., Kojić, M. O., ... Tešić, Ž. L. (2019). In vitro digestion of meat- and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How are polyphenol composition, bioaccessibility and antioxidant activity affected? *Food Chemistry*, 284(August 2018), 28–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.107>
- Proestos, C. ; N. Chorianopoulos; G. J. E. Nychas and M. Komaitis. (2005). RP- HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal Agric. Food Chem.* Vol. 53, 1190-1195.
- Reddy, G. V. B., Sen, A. R., Nair, P. N., Reddy, K. S., Reddy, K. K., & Kondaiah, N. (2013). Effects of grape seed extract on the oxidative and microbial stability of restructured mutton slices. *Meat Science*, 95(2), 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.016>
- Robbins, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal Agric. Food Chem.* Vol. 51, 2866-2887.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., & Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020>
- Soheili, M. (2019). *Lavandula angustifolia* biological characteristics : An in vitro study, (December 2018), *Journal of Cellular Physiology*. 16424–16430. <https://doi.org/10.1002/jcp.28311>
- Turgut, S. S., Işıklı, F., & Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. *Meat Science*, 129, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>



- Velioglu, Y.S., Mazza, G.; Gao, L. and B.D. Oomah. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal. Agric. Food Chem.* Vol. 46, 4113-4117.
- Villasante, J., Girbal, M., Metón, I., & Almajano, M. P. (2019). Effects of pecan nut (*Carya illinoensis*) and roselle flower (*Hibiscus sabdariffa*) as antioxidant and antimicrobial agents for sardines (*Sardina pilchardus*). *Molecules*, 24(1). <https://doi.org/10.3390/molecules24010085>
- Yin, M. chin, & Chao, C. yi. (2008). Anti-Campylobacter, anti-aerobic, and anti-oxidative effects of roselle calyx extract and protocatechuic acid in ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 127(1–2), 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.06.002>
- Zhang, H., Wu, J., & Guo, X. (2016). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellness*, 5(1), 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.11.003>
- Zhou, F., Jongberg, S., Zhao, M., Sun, W., & Skibsted, L. H. (2019). Antioxidant efficiency and mechanisms of green tea, rosemary or maté extracts in porcine Longissimus dorsi subjected to iron-induced oxidative stress. *Food Chemistry*, 298(June), 125030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125030>